



300627  
UNIVERSIDAD LA S ~~34~~

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M. 2EJ

**"ANALOGOS DE PROGLUMIDA COMO  
POTENCIALES ANTIULCEROSOS"**

**TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A :  
BERTHA ROMERO HERNANDEZ**



DIRECTOR DE TESIS:  
M. en C. ALFONSO S. LIRA ROCHA

MEXICO, D. F.

1984

1995  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Este trabajo se realizó en el Departamento de Farmacia de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.**

**DIRECTOR DE TESIS: M. en C. Alfonso S. Lira Rocha**

**ASESOR EXTERNO: Dra. Ofelia Espejo González**

**SUSTENTANTE: Bertha Romero Hernández**

**A Dios:**

por haberme dado la oportunidad de alcanzar esta meta

**A la Universidad La Salle:**

por ser una importante guía

**A mis padres:**

por su apoyo, amor y comprensión ilimitados

**A la Dra. Ofelia Espejo:**

con respeto y agradecimiento

**Al M. en C. Alfonso Lira Rocha:**

por su amistad, dedicación y consejos

**A la memoria de mi abuelo Teodoro:  
por compartir sus conocimientos y experiencias de la vida.**

**A Mónica:  
por su invaluable amistad**

**A la memoria de mi compañera Angeles Guzmán Molina:  
a quien siempre recuerdo**

**A todas las personas que de alguna manera han contribuido en mi  
formación humana y profesional.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Dra. Elia Naranjo y Enrique López Castro por la realización de las Evaluaciones Biológicas**

**A la Q. Maricela Gutiérrez por la determinación de los espectros de Infrarrojo**

**A la M. en C. Isabel Chávez por la determinación de los espectros de RMN**

**Al I. Q. Luis Velasco Ibarra por la determinación de los espectros de masas**

## INDICE

	Página
<b>OBJETIVO</b> .....	1
<b>INTRODUCCION</b> .....	2
<b>ANTECEDENTES</b> .....	3
<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	18
Síntesis y caracterización de los compuestos:.....	18
Obtención del ácido benzoilamido glutámico.....	19
Obtención del anhídrido del ácido benzoilamido glutámico.....	21
Obtención del ácido 4-(benzoilamido)-5-(dipropilamino) -5-oxopentanoico.....	23
Obtención de análogos del 4-(benzoilamido) -5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico.....	25
Evaluación Biológica.....	28
<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	29
Caracterización de los compuestos.....	30
Acido benzoilamido glutámico.....	30
Anhídrido del ácido benzoilamido glutámico.....	33
Acido 4-(benzoilamido)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico.....	34
Acido 4-(benzoilamido)-5-(1-piperidinil)-5-oxopentanoico.....	37
Acido 4-(benzoilamido)-5-(1-morfolinil)-5-oxopentanoico.....	39
Acido 4-(benzoilamido)-5-(1-pirrolidinil)-5-oxopentanoico.....	41
Evaluación Biológica. (actividad antiulcerosa).....	44
<b>ESPECTROS</b> .....	45
<b>CONCLUSIONES</b> .....	64
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	66

## **OBJETIVO**

**Sintetizar derivados del ácido glutámico, análogos de proglumida.**

**Evaluación biológica preliminar de los compuestos sintetizados como posibles antiulcerosos.**



## INTRODUCCION

La úlcera péptica es sin duda el trastorno estructural más frecuente del aparato digestivo del hombre e incluso quizá sea el símbolo de nuestra era, por tanto los fármacos antiulcerosos sufren una evolución continua buscando nuevas alternativas.

Los mecanismos de formación de úlceras son complejos y aún se desconoce la etiología exacta, aunque se considera que se encuentran involucrados diversos factores.

En la úlcera péptica pueden obtenerse efectos favorables deprimiendo la secreción gástrica o bien neutralizándola, afin a estas acciones está la de proteger la mucosa gástrica y la úlcera de la acción del ácido clorhídrico y la pepsina.

Entre los fármacos utilizados en el tratamiento de la úlcera péptica se encuentran los antiácidos, anticolinérgicos y los inhibidores de los receptores  $H_2$  de la histamina y algunos citoprotectores. La investigación en este campo es amplia y se continúa probando y haciendo estudios con diferentes compuestos químicos con el afán de mejorar la terapéutica antiúlcera mediante fármacos y/o mecanismos alternativos; como es el caso de la inhibición de la gastrina; un prototipo de este grupo es la proglumida (ácido 4-(benzoilamino)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico); derivado del ácido glutámico cuyo mecanismo de acción parece estar ligado a su estructura similar a la porción terminal de la gastrina, lo que sugiere que pueda existir una acción competitiva.

En el presente trabajo se plantea la síntesis de análogos de proglumida con posible actividad antiulcerosa.

## **ANTECEDENTES**

Una úlcera péptica es una zona de la mucosa erosionada por acción digestiva del jugo gástrico, la localización más frecuente de las úlceras pépticas es en los primeros centímetros del duodeno, además, son frecuentes las úlceras pépticas a lo largo de la curvatura menor del extremo antral del estómago. <sup>1</sup>

La úlcera gastroduodenal es una afección frecuente estimándose que afecta al 10% de la población. Está caracterizada por una pérdida de sustancia (úlcera) de la mucosa, que se extiende a la submucosa y capa muscular;<sup>2</sup> las células epiteliales se regeneran continuamente; las pequeñas regiones de lesión se reparan rápidamente, sin embargo si una porción de superficie mucosa sufre erosión, formándose una úlcera, la secreción ácida puede causar dolor.

Se han descrito diversos factores y teorías relativas a la etiología de la úlcera péptica, entre los cuales se encuentran factores genéticos, medio ambiente y personalidad, que se ven reflejados principalmente por tensión emocional y factores de riesgo como alcohol, tabaco, café, algunos fármacos como los antiinflamatorios no esteroideos, etc.

Con respecto a la fisiopatología se puede decir que la actividad ácida y péptica son esenciales para el desarrollo de la úlcera péptica. Dentro de la patogénesis también se ve involucrada la resistencia de la mucosa, la cual está influida por su irrigación sanguínea, la composición del moco secretado y la liberación local de sustancias que causan daño a los tejidos; es variable la importancia relativa de estos factores. También están involucradas sustancias que estimulan a las células parietales (acetilcolina, histamina y gastrina), la barrera de la mucosa gástrica (suma de factores que determinan la relativa impermeabilidad de la mucosa gástrica a iones, proteínas y agua), la regeneración celular, el vaciamiento gástrico, el reflujo duodenal, etc.<sup>3</sup>

En los últimos años se ha estudiado la relación que existe entre el desarrollo de úlceras pépticas y la presencia de microorganismos como es el caso de *Campilobacter pylori* (*Helicobacter pylori*), el cual se considera como un factor más que puede asociarse a los ya mencionados (predisposición genética, incremento en el número de células parietales, hábito de fumar, etc) y promover el desarrollo de la ulceración péptica en individuos susceptibles.

Los fármacos utilizados en el tratamiento de las úlceras pépticas pueden clasificarse en tres grandes grupos: antiácidos, citoprotectores y antisecretores.

#### I. Antiácidos.

Los antiácidos son medicamentos cuya actividad es neutralizar al ácido clorhídrico secretado por las células parietales. Su capacidad de neutralización depende principalmente de la dosis y del tiempo de administración en relación a las comidas. Principalmente se utilizan con este fin diversas sales de aluminio y magnesio.

#### II: Citoprotectores.

El tratamiento de los citoprotectores fue dado originalmente por las prostaglandinas, ya que tienen la capacidad de actuar sobre algunos factores que estabilizan la membrana e impiden la acción ulcerogénica de algunas sustancias externas; otros compuestos que se han clasificado dentro de este grupo por presentar una actividad semejante, son el sucralfato, la carbenoxolona (Fig. 1a), el subcitrate de bismuto y derivados de prostaglandinas (Fig. 1b).

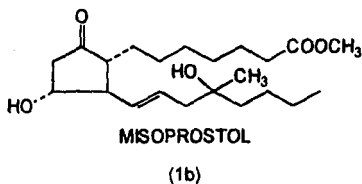
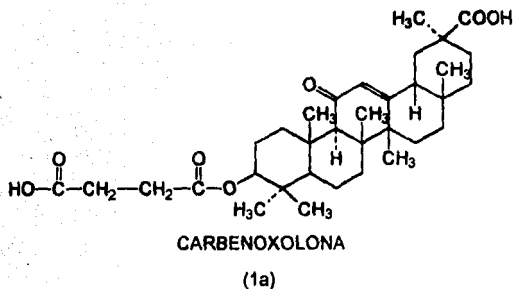
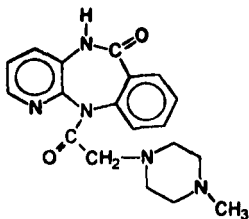


Fig.1 Ejemplos de citoprotectores.

### III. Antisecretores.

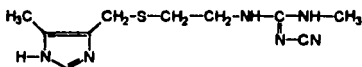
1. Por mucho tiempo los medicamentos más usados para el tratamiento de las úlceras fueron los anticolinérgicos, compuestos cuya acción es bloquear a la acetilcolina e inhibir de esta forma la secreción gástrica producida por la estimulación de ésta. Los anticolinérgicos clásicos como la atropina fueron eliminados de la terapia de las úlceras pépticas, siendo reemplazados por compuestos tricíclicos, que bloquean predominantemente a los receptores muscarínicos M1 de las células ganglionares, de los cuales la pirenzepina (Fig.2) es el prototipo.



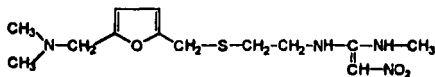
PIRENZEPINA

Fig.2

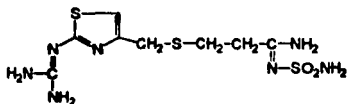
2. El segundo grupo de compuestos clasificados como antisecretores, es el de los antagonistas de los receptores  $H_2$  de la histamina. Dentro del cual se encuentran la cimetidina (Fig. 3a), la ranitidina (Fig. 3b) y la famotidina (Fig. 3c).



CIMETIDINA  
(3a)



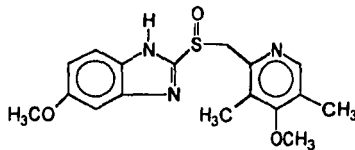
RANITIDINA  
(3b)



FAMOTIDINA  
(3c)

Fig. 3 Antagonistas de los receptores  $H_2$  de la histamina

3. Inhibidores enzimáticos, representados por el omeprazol (Fig.4), derivado del benzimidazol, inhibe la secreción gástrica del ácido al suprimir la actividad de la enzima  $H^+/K^+$ -ATPasa, que juega un importante papel al desencadenar la acción de la bomba de protones en las células parietales, encargadas de la producción del ácido.



OMEPRAZOL

Fig.4

4. Un enfoque diferente al tratamiento de las úlceras pépticas lo constituyen los antagonistas de los receptores de gastrina. El compuesto que representa a este grupo es la proglumida (Fig.5).

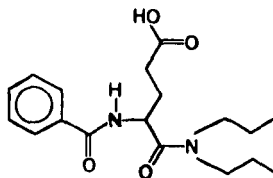


Figura 5

La proglumida ha sido utilizada como modelo para investigaciones posteriores en el desarrollo de compuestos antagonistas de colecistocinina (CCK) y gastrina. Ambas hormonas polipeptídicas se encuentran químicamente relacionadas; poseen una secuencia amidopentapéptido terminal común, pero ambas presentan diferentes actividades biológicas.<sup>4</sup> Las propiedades fisiológicas de estas hormonas se describen a continuación.

### **GASTRINA**

La gastrina es un estimulante potente de la secreción ácida gástrica. El precursor de la gastrina es un polipéptido que contiene 101 aminoácidos. Dentro de la estructura de este polipéptido está contenida la secuencia de la gastrina mayor (G-34) y de la gastrina menor (G-17). Estas moléculas representan las dos formas más importantes del péptido, pero existe otra molécula de gastrina de 14 aminoácidos llamada mini gastrina (G-14). La estructura primaria del heptadecapéptido gastrina II se muestra en la Figura 6. Existe junto con la gastrina I que carece del grupo sulfato en el residuo tirosina. Todas las acciones biológicas de la gastrina las iguala el tetrapéptido C-terminal. La pentagastrina, que se prepara sintéticamente, es el pentapéptido C-terminal con beta alanina en lugar de lisina.

**Pyr-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr\*<sup>-</sup>Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>**

**Fig. 6 Estructura mini-gastrina (G-17). Tirosina\* O-sulfatada tipo II**

La estimulación máxima de secreción gástrica requiere la acción conjunta de los nervios colinérgicos para las células secretoras y de la gastrina. El principal estímulo para la liberación de la gastrina, es el alimento, proceso en el que se involucran tres principales mecanismos: primero una acción directa de la gastrina sobre las células G, segundo una distensión mecánica del antro, probablemente por reflejos locales y tercero una estimulación vagal<sup>3</sup>.

La máxima concentración de gastrina se encuentra en la mucosa del antro pilórico, aunque existe en cantidades menores pero apreciables, en la mucosa del duodeno proximal, el fondo gástrico, el yeyuno e íleon. La concentración plasmática normal de gastrina es de 30 a 60 pg/ml en reposo; después de tomar alimento aumenta hasta 200-400 pg/ml, el máximo se alcanza 20-45 minutos después de iniciada la comida.<sup>5</sup>

La gastrina tiene reacción ácida que depende de los residuos de ácido glutámico y del residuo de tirosina sulfatada en la molécula. Se admite que las reservas intracelulares de gastrina se hallan unidas por enlaces iónicos. La liberación de gastrina por la mucosa antral y duodenal es inhibida al disminuir el pH del contenido gástrico ( $\leq 2$ ), por lo tanto hay una retroalimentación inhibitoria de la secreción ácida mediada por la gastrina<sup>6</sup>.

La función más importante de la gastrina es la estimulación de la secreción ácida gástrica por cuatro vías:

- 1) Acción directa en las células parietales.
- 2) Potencializando la acción de la histamina.
- 3) Estimulando la liberación de histamina.
- 4) Provocando una estimulación cerebral<sup>7</sup>.



Los mecanismos por los cuales la gastrina estimula la secreción ácida todavía no están bien definidos, aunque se ha demostrado que la gastrina tiene un efecto secretor de ácido independiente, el cual es reducido en ausencia de histamina. Se sugiere que la gastrina estimula a las células parietales por un incremento en el nivel citosólico de calcio en las células parietales <sup>6</sup>.

Además de la regulación de la secreción ácida, se ha establecido que la gastrina es una hormona trófica fisiológica para la mucosa gástrica, fúndica e intestinal y para el páncreas y es probable que estos efectos sean mediados por los receptores de gastrina. Se ha encontrado que además la gastrina participa en otras actividades biológicas como la regulación del crecimiento de las células oxínticas; la estimulación de la secreción de pepsina, la contracción del músculo liso del antro, el incremento en el flujo sanguíneo de la mucosa y su participación en el control fisiológico de las secreciones pancreática y biliar.

### **COLECISTOCININA**

Hormona péptidica de 33 aminoácidos cuyas formas naturales predominantes son CCK-8 y CCK-33. (ver Fig. 7).

a) **Lys-Ala-Pro-Ser-Gly-Arg-Val-Ser-Met-Ile-Lys-Asn-Leu-Gln-Ser-Leu-Asp-Pro-Ser-His-Arg-Ile-Ser-Asp-Arg-Asp-Tyr (SO<sub>3</sub>H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>**

b) **Asp-Tyr(SO<sub>3</sub>H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>**

c) **Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>**

Fig.7 Estructura primaria de la colecistocinina porcina. a) CCK-33. b) CCK-8. c) CCK-4, (igual a tetragastrina G-4)

**Desempeña actividades biológicas en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico. Actúa como neurotransmisor/neuromodulador en ambos sistemas. Las múltiples acciones en el sistema periférico incluyen la regulación de la secreción biliar y pancreática, las contracciones de la vesícula biliar y el vaciamiento gástrico. Además, la CCK estimula el transporte de glucosa, aminoácidos, la síntesis de proteínas y DNA, energía del metabolismo; también interviene en la secreción, absorción y motilidad del estómago e intestino.**

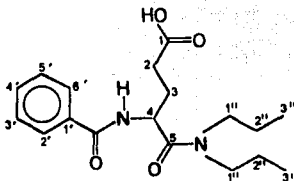
Estimula la secreción de hormonas pancreáticas como insulina, glucagón, somatostatina y polipéptidos pancreáticos.

En dos especies mamíferas, la rata y el gato, la CCK es agonista de la secreción ácida produciendo una respuesta similar a la de la gastrina pero con menos potencia. En contraste en los humanos, la CCK es un estimulante débil de la secreción ácida, esto ha sido explicado por el estímulo de secreción de somatostatina que actúa como inhibidor de la secreción ácida por las células parietales <sup>8</sup>.

En el SNC puede modular los sistemas dopaminérgico y encefalinérgico <sup>9</sup>; la CCK induce hipotermia, analgesia, hiperglicemia, e incluso se ha encontrado que la CCK induce saciedad.

Todas estas acciones están mediadas por receptores. Recientes estudios han demostrado que la CCK tiene afinidad por dos tipos de receptores CCK-A y CCK-B. Las acciones de la CCK periféricas están mediadas por el subtipo de receptor designado CCK-A y las acciones centrales son principalmente mediadas por los receptores CCK-B <sup>10</sup>. Los receptores de gastrina estomacales han sido propuestos como un tercer subtipo de receptores de CCK<sup>11</sup>.

## PROGLUMIDA.



La proglumida ha sido estudiada por su capacidad para inhibir la secreción gástrica y proteger la mucosa gastroduodenal. Se ha propuesto que la proglumida (ácido DL 4-benzamido-N,N,-dipropilglutarámico; ácido 4-(benzoilamino)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico) bloquea los receptores de gastrina, reduce la secreción e incrementa la resistencia de la mucosa gástrica.

La proglumida ha sido utilizada en el tratamiento de la úlcera péptica principalmente en Europa y Japón. Diversos estudios han demostrado la inhibición *in vivo* de la secreción gástrica estimulada por secretagogos utilizando proglumida. Otro estudio al respecto mostró la inhibición competitiva de gastrina a membranas plasmáticas de la mucosa gástrica; en células parietales aisladas la proglumida inhibe competitivamente la unión de gastrina I con sus receptores.

Se ha desarrollado el estudio de la capacidad de la proglumida ante varios tipos de úlcera inducidos experimentalmente<sup>12</sup> por agentes como antiinflamatorios no esteroideos, ligación pilórica, tensión por hipotermia e incluso agentes citodestructores como HCl (0.6M), NaOH (0.2M) y etanol al 80%. Este estudio demostró la capacidad de la proglumida para inhibir significativamente la formación de lesiones gástricas y duodenales en ratas a las cuales se les aplicaron los agentes ulcerogénicos, presentando la proglumida efectos profilácticos y curativos.

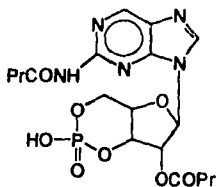
Por otra parte se han realizado estudios relacionados con la acción de la proglumida y algunos de sus derivados en algunos tipos de cáncer<sup>13-15</sup>.

Diversos antagonistas de los receptores CCK se comportan como antagonistas de la gastrina, pero en la mayoría de los casos con diferente potencia, este es el caso de la proglumida, la cual ha servido como molécula prototipo para el desarrollo de este tipo de compuestos, como se cita a continuación.

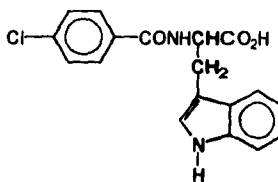
Es conveniente hacer la siguiente observación: el desarrollo de antagonistas de gastrina se ha realizado de una forma paralela al desarrollo de antagonistas de CCK. Lo anterior se basa en el hecho de que estos péptidos están estructuralmente relacionados; además se ha demostrado una similitud en especificidad de unión para receptores de gastrina estomacales y receptores CCK-B<sup>11,16-17</sup>.

Los antagonistas de CCK se clasifican en cuatro grupos<sup>8</sup>:

- i) Derivados de nucleótidos cíclicos (Dibutilil GMP cíclico, fig. 8a)
- ii) Derivados de aminoácidos (Proglumida, fig. 5, Benzotript fig. 8b)
- iii) Secuencias parciales de la región C-terminal de la CCK (fig. 8c)
- iv) Compuestos no peptídicos. (Derivados de benzodiazepinas, fig. 8d)



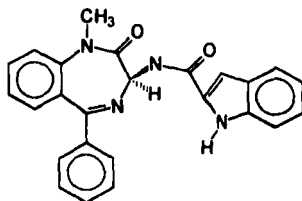
(Ba)



(Bb)

Z-Tyr(SO<sub>3</sub>H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-NH<sub>2</sub>

(8c)

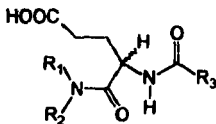


L-364,718

(8d)

Fig. 8 Ejemplos de antagonistas de colecistocinina

La proglumida (derivado del ácido glutámico) se encuentra dentro de la segunda clase de antagonistas de receptores junto con el benzotript (derivado del triptófano)<sup>18</sup>. Se han desarrollado diversos estudios acerca de la proglumida y sus análogos con el fin de estudiar su actividad antagonista de los receptores CCK. Para elucidar los requerimientos estructurales para la actividad antagonista de CCK, se hicieron diversas modificaciones a la molécula de proglumida<sup>19-20</sup>; se encontraron dos derivados potentes antagonistas de los receptores CCK-A: Lorglumida (ácido-DL-4-(3,4-diclorobenzoilamino)-5-(di-n-pentilamino)-5-oxopentanóico) y Ioxiglumida (ácido-DL-4-(3,4-diclorobenzoilamino)-5-(N-3-metoxi-propil-N-pentilamino)-5-oxopentanóico):

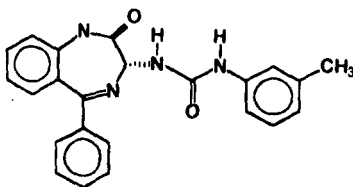


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Proglumida	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
Lorglumida	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	3,4-di-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
Loxyglumida	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub>	3,4-di-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>

Fig. 9

Estos compuestos son antagonistas competitivos, reversibles y selectivos para los receptores periféricos (tipo A) y son significativamente más potentes que la proglumida<sup>21-22</sup>. Su potencia y su estructura química apoyan la utilidad terapéutica de estos compuestos. Estudios han mostrado que el isómero D (R) es más potente que el L (S):<sup>23-24</sup>

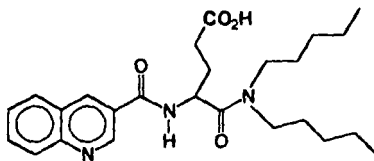
En base a la estructura química de potentes antagonistas de CCK el grupo de Merck Sharp & Dohme<sup>17,25</sup> encontró un antagonista de gastrina no peptídico, específico y potente (L-365,260), derivado de las benzodiazepinas.



L-365,260

Fig. 10

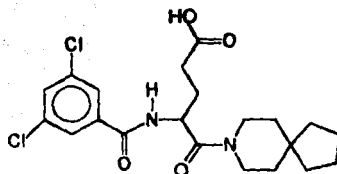
Dada la actividad antagonista de CCK y gastrina presentada por los compuestos derivados de benzodiazepinas y derivados del ácido glutámico, se desarrollaron híbridos a partir de estos dos tipos de moléculas <sup>21,26,27</sup>, resultando compuestos con una buena potencia en receptores CCK-A. Un ejemplo de ellos es el compuesto designado A-65,186.



A-65,186

Fig. 11

Los estudios posteriores se encaminaron a modificar las moléculas antagonistas de CCK-A con el objetivo de revertir este antagonismo pero hacia receptores CCK-B y por ende a receptores de gastrina. Tal es el caso del estudio realizado por Makovek F. y colaboradores<sup>4</sup> en el cual determinaron la importancia del sustituyente amino de la posición 5 del ácido benzoilglutámico. De acuerdo a una serie de compuestos sintetizados se encontró que la afinidad por receptores de gastrina se ve favorecida por la presencia de una amida terciaria cíclica, un grupo voluminoso o una amida secundaria alicíclica. Encontrando como más potente antagonista a los receptores de gastrina y CCK-B, el compuesto CR 2194.



CR 2194

Fig. 12

En base a los requerimientos presentados en este estudio se decidió preparar algunos análogos de proglumida, modificándose los sustituyentes de la posición 5 y manteniendo el resto de la molécula. El método sintético empleado originalmente<sup>28</sup> para la obtención de proglumida, se adaptó para la preparación de los análogos, con el objeto de reevaluar la actividad de estos últimos, comparando su actividad contra la de proglumida, molécula prototipo de los antagonistas de gastrina.



## PARTE EXPERIMENTAL

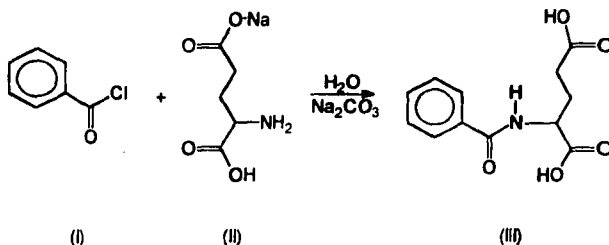
### Síntesis y caracterización de los compuestos:

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no se encuentran corregidos.

Los compuestos sintetizados fueron caracterizados por espectroscopía IR, RMN- $^1\text{H}$  y E. de masas. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-5SX en pastilla de KBr o película (NaCl), según se indique. Los espectros de RMN- $^1\text{H}$  se determinaron en un aparato Varian VXR-300s (200 MHz) empleando como disolvente  $\text{CDCl}_3$  + DMSO a menos que se indique otra cosa; se utilizó TMS como referencia interna. Los espectros de masas se determinaron en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco, por impacto electrónico.

El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa delgada usando como adsorbente gel de sílice Merck 60 F<sub>254</sub>; se utilizaron como reveladores: luz ultravioleta y vapores de yodo. Se utilizó como sistema de elución  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{CH}_3\text{OH}$  /  $\text{NH}_4\text{OH}$  en una proporción 8:2:0.1.

### Obtención del ácido benzoilamidoglutámico



En un matraz bola de 3 bocas con 500 ml de capacidad provisto de un termómetro y sistema de agitación mecánica, se colocó agua destilada (134.92 ml) y se inició agitación. Se adicionó glutamato monosódico hidratado (II) (42.08g, 225 mmol.). Se hizo descender la temperatura a 5°C (utilizando baño de hielo con sal); se adicionó el carbonato de sodio monohidratado (27.88g, 224.8 mmol) en cinco porciones, evitando que se incremente la temperatura. Se dejó en agitación durante 15 minutos. Después se agregó cloruro de benzoilo (I) (26.17 ml, 31.59g, 224.71 mmol) gota a gota, evitando que aumente la temperatura; el tiempo de adición fue de 150 minutos. Terminada la adición se dejó en agitación 19 horas a temperatura ambiente.

Se adicionó ácido clorhídrico concentrado hasta pH 4.2 apareciendo un precipitado; se hizo descender la temperatura a 7°C y se continuó con agitación durante 45 minutos. Se filtró el precipitado obtenido, ácido benzoico, (subproducto 8.1g). El filtrado se colocó en un vaso de precipitados de 500 ml con un sistema de agitación mecánica. Se agregó ácido clorhídrico concentrado hasta pH 2 y se mantuvo en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente.

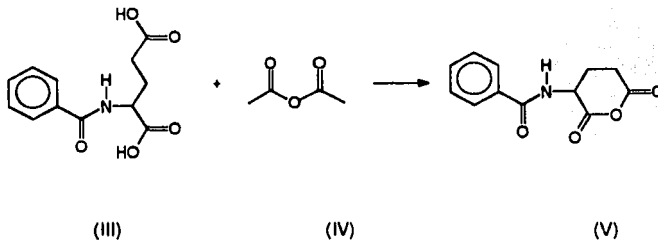
Se formó un precipitado correspondiente al producto principal. Se filtró y el filtrado se extrajo con acetato de etilo para optimizar el rendimiento; el cual fue de 84% (47.6g). Punto de fusión del producto (III) 128°C, al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR *Espectro 1* (pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2820-3000 saturado, 2500-3200 banda característica de ácido carboxílico, 1690 C-O, 3032 señal de sistema insaturado, 1450-1600 bandas de anillo aromático, 3300 N-H (estiramiento), 1534 N-H (deformación), 1640 C-O.

RMN- $^1\text{H}$ . *Espectro 2*,  $\delta$  (ppm): 7.92-7.85 señal múltiple que integra para 4 H, 7.50-7.39 señal múltiple que integra para 4H, se observa una disminución de la línea base al intercambiar con  $\text{D}_2\text{O}$ . En el intervalo de 7.92-7.85 acoplamiento doble de dobles ( $J=1.72, 6.52$  Hz.). 4.66 doble de doble de dobles (ddd) que integra para 1 H ( $J=7.8, 4.7, 8.2$  Hz.). 2.51-2.43 dos señales múltiples que integran para 4 H.

EM. *Espectro 3*,  $m/z$  (intensidad relativa): 251.2 ( $\text{M}^+$ , 0.1), 234.2 (0.2), 206 (2.3), 205, 188 (7.0), 105.2 (100), 77.2 (44.4).

### Obtención del anhídrido del ácido benzoilamidoglutámico.



En un matraz bola de 3 bocas de 250 ml de capacidad provisto de termómetro, refrigerante y sistema de agitación magnética, se colocó anhídrido acético (IV) (30.5 ml, 33g, 323.53 mmol). Se hizo ascender la temperatura hasta 40°C; después se agregó el ácido benzoilamido glutámico (III) (13.5g, 53.8 mmol). Se agitó hasta disolución del ácido en el anhídrido acético. Posteriormente se observa la formación de un precipitado; se continuó con agitación a 40°C durante un período de 2 horas. Después se suprime el calentamiento y se dejó en agitación 3 horas más.

Se colocó el matraz con la mezcla de reacción en un baño de hielo y se dejó en reposo durante 45 minutos. Se filtró a vacío con un embudo Büchner y se colocó en una cámara de vacío. Se obtuvo un producto (V) de color blanco en forma de polvo cristalino de punto de fusión 145°C. Rendimiento 81.56% (10.22g).

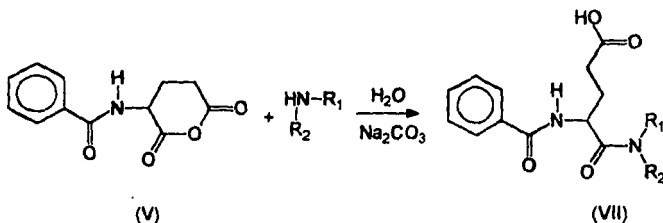
**Constantes espectroscópicas:**

IR. *Espectro 4* (pastilla,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2900 señal saturado, 3062 sistema insaturado, 1450-1600 varias bandas de aromático, 3410 N-H (estiramiento), 1528 N-H (deformación), 1664 C-O; 1816, 1785 -CO-O-CO-, 1248 -C-O-C-

RMN-H'. *Espectro 5* ( $\text{CDCl}_3$ +DMSO),  $\delta$  (ppm): 7.95-7.84 señal múltiple correspondiente a protones aromáticos dentro de la cual se distingue un doble de dobles ( $J=1.79, 6.41$  Hz), 7.6-7.38 señal múltiple que indica la presencia de protones aromáticos. 5.0 doble de doble de dobles (ddd) ( $J=7.9, 6.02, 11.7$  Hz). 4.66 ddd que integra para 1 H ( $J=7.54, 4.9, 8.37$  Hz). 3 señal múltiple. 2.5-2.4 señal múltiple. 2.4-2 multiplete.

EM. *Espectro 6*,  $m/z$  (intensidad relativa): 233.2 ( $M^+$ , 1.5), 105.1(100).

**Síntesis del ácido 4-(Benzoilamino)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico  
(proglumida)**



En un matraz de tres bocas con 100 ml de capacidad, provisto de termómetro, refrigerante y sistema de agitación magnética, se colocó agua (15 ml), y dipropilamina (VI) (4.76 ml, 3,47g, 34.3 mmol). Se inició la agitación, la temperatura se hizo descender a 2°C y se agregó el compuesto (V) (4.5g, 19.31 mmol) dividido en varias porciones evitando que la temperatura fuera mayor a 4°C. Posteriormente se añadió Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2g) en pequeñas porciones, manteniendo la temperatura menor a 4°C. Una vez terminada la adición se puso en un baño de agua, se mantuvo con agitación 1 hora disolviéndose el anhídrido y el carbonato. Se calienta la mezcla de reacción a 55°C, se mantuvo a esta temperatura y con agitación continua durante 2 horas. Se dejó en agitación a temperatura ambiente 18 horas.

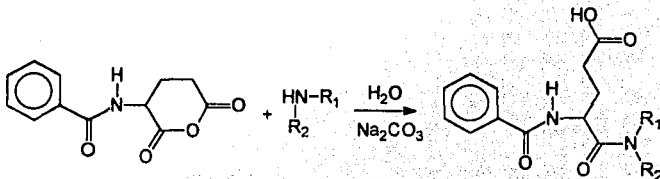
Se ajustó el pH a 5.5 con ácido acético; se observó la formación de un precipitado, se enfrió y filtró. Rendimiento 36%. El punto de fusión obtenido del producto (VII) recristalizado de isopropanol fue 142°C. Cristales blancos en forma de aguja. Cuyas constantes espectroscópicas fueron:

IR. *Espectro 7* (película,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2850-3000 sistema saturado, 3060 insaturaciones, 1450-1500 bandas de aromaticidad, 2500-3500 banda característica de ácido carboxílico, 1704 C-O, 3310 N-H (estiramiento). 1532 N-H (deformación), 1616 banda ancha estiramiento de carbonilo.

RMN- $^1\text{H}$ . *Espectro 8* ( $\text{CDCl}_3$ +DMSO),  $\delta$  (ppm): 7.8-7.9 señal múltiple dentro de la cual se distingue un doble de dobles ( $J=1.59, 8.08$  Hz), 7.65-7.4 señal múltiple que indica la presencia de protones aromáticos. 5.25 doble de doble de dobles (ddd) que integra para 1 H ( $J=8.13, 3.37, 9.75$  Hz). 3.6-3.0 dos multipletes que integran para 4 H. 2.6-2.39 señal múltiple que integra para 2H. 2.2-1.5 conjunto de señales múltiples que integra para 6H; 2.2-1.8 señal múltiple doble simétrica. 1.65-1.55 sextuplete, 0.8-1 dos tripletes sobrepuestos.

EM. *Espectro 9*,  $m/z$  (intensidad relativa): 317.2 (0.2), 234(2.3), 206.1 (15.0), 189 (3), 188(3), 105.1 (100.0), 100 (14.2), 77.2 (28.5).

Los siguientes derivados se prepararon de acuerdo al procedimiento descrito para la obtención del ácido 4-(benzoilamino)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico.



Producto	R1	R2	Rendimiento	p.f. (°C)
(VIII) ácido 4-(benzoilamino)-5-(1-piperidinil)-5-oxopentanoico.	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -		49.4%	192 (1)
(IX) ácido 4-(benzoilamino)-5-(1-morfolinil)-5-oxopentanoico.	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -		57.3%	140 (2)
(X) ácido 4-(benzoilamino)-5-(1-pirrolidinil)-5-oxopentanoico.	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -		30.6%	177 (2)

(1) Recristalizado en isopropanol, (2) macerado en acetona.

En cada uno de los casos se utilizaron 34.8 mmol de la amina correspondiente.



Constantes Espectroscópicas:

**COMPUESTO (VIII):**

IR. *Espectro 10* (pastilla  $\text{cm}^{-1}$ ): 2850-3000 saturaciones, 3100 sistema insaturado, 14050-1550 bandas de anillo aromático, 2700-3500 banda característica de ácido carboxílico, 1730 vibración de estiramiento de carbonilo, 3294 N-H (estiramiento), 1548 N-H (deformación), 1618 C-O intensa.

RMN-H'. *Espectro 11* ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$ ),  $\delta$  (ppm): 7.92 señal que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$ . 7.89-7.8 señal doble de dobles, protones aromáticos, ( $J=1.56$ , 7.86 Hz). 7.55-7.37 señal múltiple que indica la presencia de protones aromáticos desplazados a campo más alto. Al agregar agua deuterada se observa disminución en la línea base alrededor de 8 ppm. 5.14 ddd ( $J=8.52$ , 3.6, 8.5 Hz). 3.7-3.45 multiplete, señal ancha, 2.6-2.32 señal múltiple, 2.25-1.8 señal múltiple doble simétrica, 1.75-1.5 señal intensa.

EM. *Espectro 12*, m/z (intensidad relativa): 318.2 ( $\text{M}^+$ , 0.1), 234 (0.1), 206 (10), 188 (5), 105.2 (100.0), 84.2 (45.4), 77.2 (36.9).

**COMPUESTO (IX):**

IR. *Espectro 13* (pastilla  $\text{cm}^{-1}$ ): 2928, 2972 saturado (- $\text{CH}_2$ -), 3068 sistema insaturado, 1446-1470 señales aromaticidad, 2700-3500 banda característica de ácido carboxílico, 1726 C=O, 3308 N-H (estiramiento), 1628 señal intensa C=O, 1118 C-O-C.

RMN-H'. *Espectro 14* ( $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO} + \text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$ (ppm): 8.7-8.3 doblete que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  ( $J=7.98$  Hz). 7.92-7.82 señal doble de dobles, protones aromáticos ( $J=1.9$ , 8 Hz). 7.6-7.35 señal múltiple de protones aromáticos, 5.11 doble de doble de dobles, 3.8-3.5 señal múltiple(- $\text{CH}_2\text{-NCOR}$  + - $\text{CH}_2\text{-O-R}$ ), 2.65-2.4 señal múltiple, 2.25-1.85 señal múltiple doble simétrica.

EM. *Espectro 15*, m/z (intensidad relativa): 302.2 (0.3), 234(2.1), 206.1 (11.0), 188 (3), 105.1 (100.0), 86 (4.7), 77.2 (24.7).

**COMPUESTO (X):**

IR. *Espectro 16* (película,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2966, 2878 saturado ( $-\text{CH}_2-$ ), 720 (4 o más metilenos), 3090 insaturado, 1450-1574 señales de anillo aromático, 2500-3500 banda característica de ácido carboxílico, 1730 C=O, 3294 N-H (estiramiento), 1614 señal intensa doble C=O.

RMN- $^1\text{H}$ . *Espectro 17* ( $\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta(\text{ppm})$ : 7.95-7.82 conjunto de señales (integra para 3H), de las cuales un doblete intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  y otra corresponde a un doble de dobles ( $J=1.63, 8.06$  Hz) protones aromáticos. 7.55-7.35 señal múltiple que indica la presencia de protones aromáticos. 4.925 ddd integra para 1H ( $J=8.3$  Hz., 4.3 Hz, 6.3 Hz). 3.79-3.36 señal múltiple que integra para 4H ( $-\text{CH}_2-\text{NCOR}$ ). 2.5-2.35 señal múltiple, 2.1-1.8 multiplete.

EM. *Espectro 18*, m/z (intensidad relativa): 304.2 ( $\text{M}^+$ , 0.1), 234 (0.1) 206 (7.5), 188 (2.5), 105 (100), 77.2 (18.3), 70 (14.2).

### **Evaluación Biológica:**

Se utilizaron ratas, Wistar, machos (150-220 g); se dividieron en grupos control y tratados. Ambos grupos de animales se privaron de alimento por 48 h para posteriormente inmovilizarlos y someterlos a temperatura de 4 °C, durante 4h. A los animales de los grupos tratados se les administraron las sustancias por vía enteral a las dosis de 150, 300 y 500 mg/Kg antes de ser inmovilizados. El vehículo utilizado fue aceite de maíz; al grupo control sólo se le administró el vehículo. Los animales se sacrificaron por dislocación, se les realizó un corte en la parte ventral y se les extrajo el estómago e intestino, estos órganos se colocaron en solución salina isotónica (SSI). Se hicieron cortes del estómago a lo largo de la curvatura mayor y a lo largo del intestino, para medir y cuantificar la presencia de traumatismos en la mucosa (úlceras). El número de individuos (n) utilizados para cada una de las dosis de las diferentes sustancias fue 5; en el caso del grupo control n=9. Se utilizó la Prueba de U Mann-Whitney<sup>30</sup> para determinar la significancia de las diferencias entre los valores de las sustancias evaluadas y los del control.

En la siguiente tabla se esquematizan los resultados obtenidos. El área afectada corresponde a la media de la población respectiva.

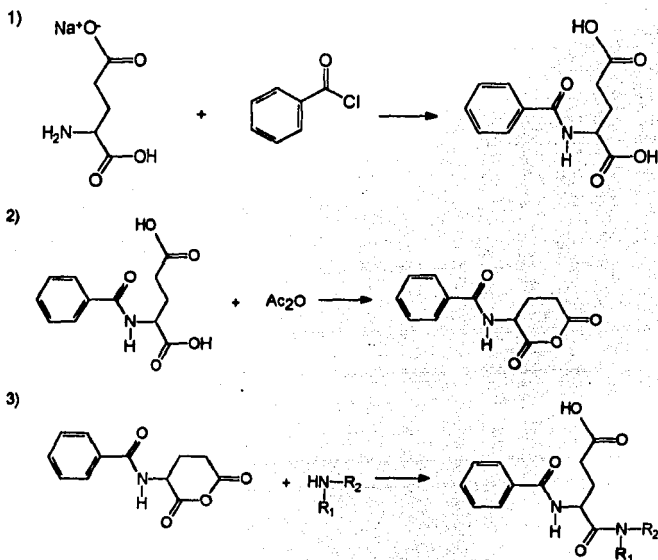
El área afectada promedio del control fué **10.965 mm<sup>2</sup>**

**TABLA 1. AREA AFECTADA PROMEDIO (mm<sup>2</sup>)/DOSIS**

<b>SUSTANCIA</b>	<b>DOSIS (mg/Kg)</b>		
	<b>150</b>	<b>300</b>	<b>500</b>
Compuesto VII	6.08	3.85	2.29
Compuesto VIII	4.73	0.75	0.04
Compuesto IX	7.47	5.81	1.87
Compuesto X	0.79	0.08	0.00

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

A partir del glutamato monosódico se prepararon los análogos de proglumida mediante el siguiente esquema de síntesis:



Los diferentes compuestos fueron caracterizados mediante sus constantes físicas y espectroscópicas.

### COMPUESTO III

#### Ácido benzilamidoglutámico.

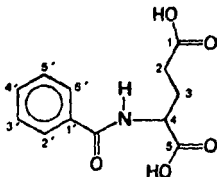


Fig. 13

**IR Espectro 1:** Se observa banda de sistema insaturado en  $3032\text{ cm}^{-1}$ , la cual se confirma con las bandas de  $1450\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a un anillo aromático,  $2500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$  banda intensa característica de ácido carboxílico,  $1690\text{ cm}^{-1}$  banda intensa doble correspondiente a grupo funcional carbonilo,  $3300\text{ cm}^{-1}$  una banda de vibración de estiramiento N-H, en  $1534\text{ cm}^{-1}$  interacción C-N y N-H (banda II de amida),  $1640\text{ cm}^{-1}$  señal de carbonilo, que junto con las dos señales anteriores indica la presencia de una amida secundaria.

**RMN-H'. Espectro 2:** 7.92-7.85 ppm señal múltiple que integra para 4 H, 7.50-7.39 ppm señal múltiple que integra para 4H, al agregar  $\text{D}_2\text{O}$  se observa una disminución de la línea base. Estos ocho protones corresponden a los 5H del anillo aromático, a los 2 de los grupos carbonilo de las posiciones 1 y 5; y al H unido al N de la benzamida. En el intervalo de 7.92-7.85 ppm se observa acoplamiento doble de dobles ( $J=1,72; 6,52\text{ Hz}$ ) correspondientes a los protones de las posiciones 2' y 6'. En 4.66 ppm ddd ( $J=7,8, 4,8, 8,2\text{ Hz}$ ) que integra para 1 H (posición 4). El rango de 2.51 a 2.08 ppm integra para 4 H,

pero se puede diferenciar por los tipos de señales, que el multiplete de 2.51-2.43 ppm corresponde a los hidrógenos del carbon de la posición 2, su comportamiento se debe a su vecindad con el grupo carboxilo; el otro agrupamiento de señales (2.44-2.08 ppm) deben ser los protones de la posición 3 que debido a su acoplamiento con los protones C-4 y C-2 generan esta señal múltiple.

En todos los casos dada la presencia de un centro quiral el comportamiento de los protones no es de primer orden, ya que como es posible observar en la Fig. 14 los protones no son magnéticamente iguales, ocasionando señales complejas.

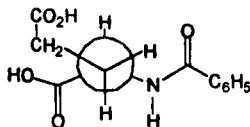


Fig. 14

EM. *Espectro 3*,  $m/z$ : 251.2 representa el peso molecular del compuesto ( $C_{12}H_{13}O_5N$ ); 234,  $M^+ - 17$  (pérdida de OH). 206,  $M^+ - 17 - 28$ , pérdida de CO. 205 pérdida de un H. 188 pérdida de OH, 105.2 (pico base),  $C_6H_5-CO-$ . 77.2 corresponde al fragmento  $C_6H_5^+$ . En el siguiente esquema (fig. 15) se propone el mecanismo de fragmentación:

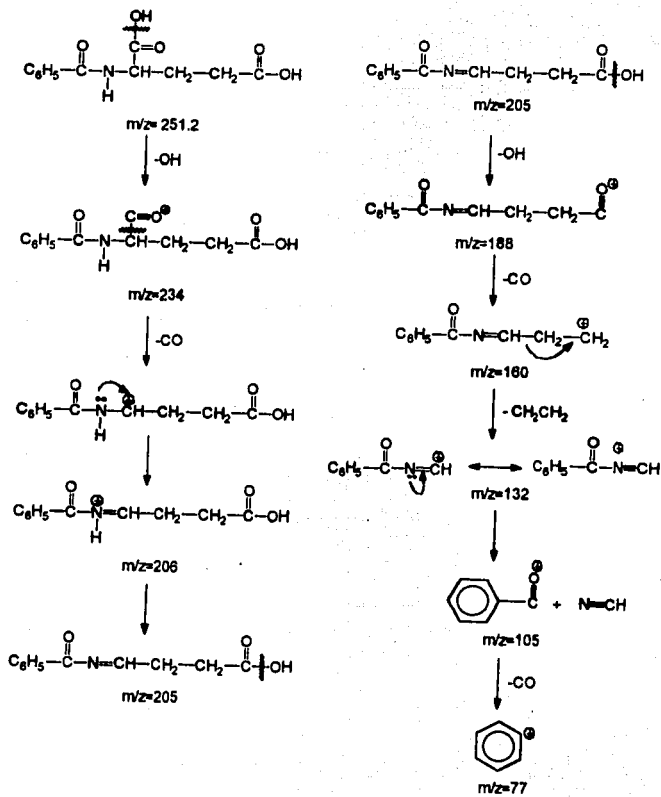


Fig. 15

## COMPUESTO V

Anhidrido del ácido benzamidoglutámico.

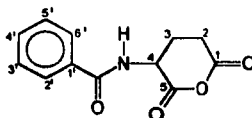


Fig. 16

IR. *Espectro 4*: 2900 ppm señal saturado (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3062 señal de sistema insaturado, que junto con las bandas de 1450-1600 ppm indican la presencia de anillo aromático, 3410 ppm banda de estiramiento N-H, 1528 ppm (N-H y C-N. banda II de amida), 1664 ppm vibración de carbonilo; 1816 ppm, 1785 ppm -CO-O-CO-, 1248 ppm -C-O-C- (anhidrido cíclico).

RMN-H'. *Espectro 5*,  $\delta$ (ppm): 7.95-7.84 señal múltiple correspondiente a protones aromáticos dentro de la cual se distingue un doble de dobles (J=1.79, 6.41 Hz) posiciones 2' y 6'. 7.6-7.38 señal múltiple que indica la presencia de protones aromáticos, posiciones 3', 5' y 4'. 5.00 ddd (J=7.9, 6.02, 11.7 Hz) corresponde al protón de la posición 4 de uno de los estereoisómeros en el que dicho protón está en posición ecuatorial (estereoisómero A). 4.66 ddd que integra para 1 H (J=7.54, 4.9, 8.37 Hz), protón de la posición 4 del estereoisómero en el cual se encuentra axial (estereoisómero B). La señal centrada en 3 se asigna a los protones de la posición 2 del estereoisómero A. 2.5-2.4 señal múltiple que corresponde a los protones de la posición 2 del estereoisómero B. 2.4-2 multiplete, protones de la posición 3.

EM. *Espectro 6*, m/z: 233.2, ión molecular (C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>); 105.1, pico base, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CO-.



## COMPUESTO VII

Acido 4-(Benzoilamino)-5-(dipropilamino)-5-oxopentanoico.

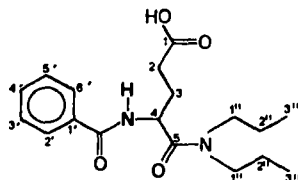


Fig. 17

IR. *Espectro 7*:  $2850-3000\text{ cm}^{-1}$  sistema saturado ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ).  $3060\text{ cm}^{-1}$  insaturación, con las señales de  $1450-1500\text{ cm}^{-1}$  indica aromaticidad,  $2500-3500\text{ cm}^{-1}$  banda característica de ácido carboxílico,  $1704\text{ cm}^{-1}$  señal de  $\text{C}=\text{O}$ ,  $3310\text{ cm}^{-1}$  (N-H).  $1532\text{ cm}^{-1}$  (N-H y C-N banda II de amida),  $1616\text{ cm}^{-1}$  banda ancha estiramiento de carbonilo, correspondiente a la amida secundaria y terciaria.

RMN-H'. *Espectro 8*: En 7.8-7.9 ppm hay una señal múltiple dentro de la cual se distingue un doble de dobles ( $J=1.59, 8.08\text{ Hz}$ ), protones de las posiciones 2' y 6'. 7.65-7.4 ppm señal múltiple de protones aromáticos correspondientes a las posiciones 5', 3' y 4'. En 5.25 ppm hay un doble de doble de dobles (ddd) que integra para 1 H, proton de la posición 4, ( $J=8.13, 3.37, 9.75\text{ Hz}$ ). 3.6-3.0 ppm dos conjuntos de señales múltiples que integran para 4 H de acuerdo al desplazamiento corresponden a los protones de las posiciones 1'',

2.6-2.39 ppm señal múltiple que integra para 2H (protones unidos al C de la posición 2). 2.2-1.5 ppm conjunto de señales múltiples que integra para 6H, de los cuales de 2.2-1.8 ppm señal múltiple doble simétrica (2 protones de la posición 3); en 1.65-1.55 ppm sextuplete (protones de las posiciones 2''). En 0.8-1 ppm hay dos tripletes sobrepuestos, que integran para 6H (protones de las posiciones 3''). Los grupos alquilo sustituyentes de la amina terciaria son químicamente iguales pero no son magnéticamente equivalentes, ya que una de las cadenas (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) se ve afectada por el grupo carbonilo.

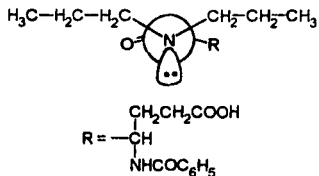


Fig. 18

Con respecto a la fragmentación del espectro de masas, los compuestos VII, VIII, IX y X presentaron el patrón de ruptura esquematizado en la Fig. 19, de lo que resulta el pico  $m/z=234$ , a partir del cual se sigue el patrón de fragmentación establecido para el compuesto III (Fig. 15).

EM. Espectro 9,  $m/z$ : 317.2,  $M^+-17$ , pérdida de OH, 234,  $M^+-100$ , ruptura A. 206.1,  $M^+-100-28$  (pérdida de CO). 105.1 (pico base),  $C_6H_5-CO-$ . La señal con  $m/z=100$  corresponde al fragmento  $^+N(CH_2CH_2CH_3)_2$ , el cual se pierde en la ruptura A.

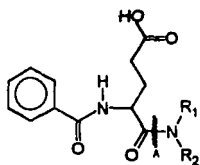


Fig. 19

### COMPUESTO (VIII)

Acido 4-(benzoilamino)-5-(1-piperidinil)-5-oxopentanoico.

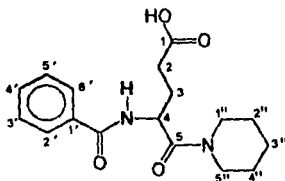


Fig. 20

IR. *Espectro 10*: 2850-3000  $\text{cm}^{-1}$  saturaciones (CH,  $\text{CH}_2$ ), 3100  $\text{cm}^{-1}$  sistema insaturado, que junto con las señales en 14050-1550  $\text{cm}^{-1}$  indica anillo aromático, En 2700-3500  $\text{cm}^{-1}$  se observa banda característica de ácido carboxílico y en 1730  $\text{cm}^{-1}$  señal correspondiente a la vibración de estiramiento de carbonilo. 3294  $\text{cm}^{-1}$  una banda de vibración de estiramiento N-H (correspondiente a la benzamida), y en 1548  $\text{cm}^{-1}$  se observa banda II de amida (N-H y C-N). A 1618  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra una banda intensa de C=O de los grupos amido.

RMN- $\text{H}^1$ . *Espectro 11*: En 7.92 ppm hay una señal que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  (H unido al N de la benzamida). En 7.89-7.8 ppm se observa un doble de dobles, (protones aromáticos 2' y 6'). La señal múltiple de 7.55-7.37 ppm corresponde a los protones de las posiciones 4', 3' y 5'. Al agregar agua deuterada se observa disminución en la línea base alrededor de 8 ppm ( $\text{COOH}$ ).

La señal ddd en 5.14 ppm ( $J=8.52, 3.6, 8.5$  Hz) por desplazamiento corresponde al H de la posición 4. En 3.7-3.45 ppm multiplete, señal ancha, protones de las posiciones 1" y 5". Señal múltiple de 2.6-2.32 ppm, protones unidos al C de la posición 2. En 2.25-1.8 ppm señal múltiple doble simétrica, protones de la posición 3. 1.75-1.5 ppm señal intensa que corresponde a los 6H de las posiciones 2", 3" y 4".

EM. *Espectro 12*,  $m/z$ : 318.2, representa el peso molecular ( $M^+$ ,  $C_{17}H_{22}N_2O_4$ ); 234, fragmento resultante de la ruptura A (ver fig. 19); 84.2,  $C_5H_{10}N^+$ , separada en la ruptura A.; 105.2, ( $C_6H_5CO^+$ ), pico base.

## COMPUESTO (IX)

### Acido 4-(benzoilamino)-5-(1-morfolinil)-5-oxopentanoico.

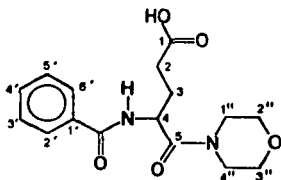


Fig. 21

IR. *Espectro 13*: La señal de  $3068\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia de un sistema insaturado, que se confirma con las bandas de  $1446\text{-}1470\text{ cm}^{-1}$ , que corresponden a un sistema aromático. En  $2700\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  banda característica de ácido carboxílico, del cual la vibración de estiramiento del carbonilo se observa en  $1726\text{ cm}^{-1}$ . La señal de  $3308\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración N-H (estiramiento) de la amida,  $1628\text{ cm}^{-1}$  señal intensa C=O, (amidas). En  $1118\text{ cm}^{-1}$  C-O-C.(éter).

RMN-H'. *Espectro 14*: En 8.7-8.3 ppm hay un doblete que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  ( $J=7.98\text{ Hz}$ ), HC-NH-CO. 7.92-7.82 ppm señal doble de dobles de protones aromáticos ( $J=1.9, 8\text{ Hz}$ ) correspondiente a los protones de las posiciones 2' y 6'. En 7.6-7.35 ppm señal múltiple de protones aromáticos. 5.11 ppm ddd (protón de la posición 4). En 3.8-3.5 ppm hay una señal múltiple ancha correspondiente a las señales sobrepuestas de los protones de las posiciones 1'', 4'' y 2'', 3'' (-CH<sub>2</sub>-NCOR, -CH<sub>2</sub>-O-R), 2.65-2.4 ppm señal múltiple que por desplazamiento corresponde a los protones de la posición 2. En 2.25-1.85 ppm hay una señal múltiple doble simétrica que corresponde al protón de la posición 3.

EM. Espectro 15, m/z: 302.2 ( $M^+ - 18$ ); 234, fragmentación A; 105.1 (pico base), 86,  $C_4H_8ON^+$ . (fragmentación A. Fig. 19).

## COMPUESTO (X)

### Acido 4-(benzollamino)-5-(1-pirrolidini)-5-oxopentanolco.

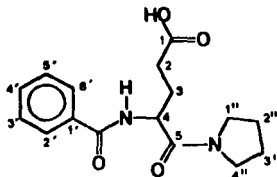


Fig. 22

IR. *Espectro 16*: 2966, 2878  $\text{cm}^{-1}$  saturado ( $-\text{CH}_2-$ ). En 720  $\text{cm}^{-1}$  señal que indica la presencia de 4 metilenos. La señal en 3090  $\text{cm}^{-1}$  indica un sistema insaturado, que se comprueba con las bandas de aromaticidad presentes en 1450-1574  $\text{cm}^{-1}$ . En 2500-3500  $\text{cm}^{-1}$  se observa banda característica de ácido carboxílico, la vibración de estiramiento del carbonilo se observa en 1730  $\text{cm}^{-1}$ . Una señal en 3294  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración N-H (estiramiento) de la benzamida. En 1614  $\text{cm}^{-1}$  hay una señal intensa doble de estiramiento de carbonilo (amidas).

RMN- $^1\text{H}$ . *Espectro 17*: En 7.95-7.82 ppm se observa conjunto de señales (que integra para 3H), de las cuales un doblete intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  (protón unido al N de la benzamida), la otra señal corresponde a un doble de dobles ( $J=1.63$  Hz, 8.06 Hz) protones aromáticos, H de las posiciones 2' y 6'. La señal múltiple de 7.55-7.35 ppm corresponde a los protones aromáticos 4', 3' y 5'. En 4.925 ppm se observa una señal ddd, que integra para 1H ( $J=8.3$  Hz, 4.3Hz, 6.3 Hz), y corresponde al H de la posición 4. En 3.79-3.36 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 4H ( $-\text{CH}_2-\text{NCOR}$ ), que por su desplazamiento corresponde a los H de las posiciones 1'' y 4''. La señal múltiple de 2.5-2.35 ppm que por su desplazamiento corresponde a los protones de la posición 2. En



2.1-1.8 ppm señal múltiple en la cual se deben encontrar superpuestas las señales de los protones de las posiciones 2'' y 3'' y los de la posición 3.

EM. Espectro 18, m/z: 304.2 representa el peso molecular del compuesto ( $M^+$ ,  $C_{16}H_{20}N_2O_4$ ); la ruptura A da como resultado los picos m/z=234 y m/z=70; 105 (pico base).

Aunque la materia prima es ópticamente activa (L), el producto que se obtiene es un racemato. Esto es consecuencia de la utilización de un medio básico en el primer paso de la secuencia sintética, lo que favorece la enolización, y en consecuencia la racemización.

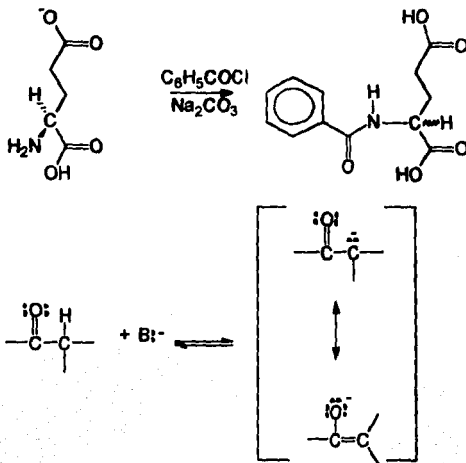


Fig. 23

En cuanto a la apertura del anhídrido cíclico, en el tercer paso de la síntesis, aparentemente no hay un control sobre la selectividad en la adición del nucleófilo a cualquiera de los carbonos carbonílicos, sin embargo, se observó que la adición se realiza hacia el carbonilo vecino al grupo benzamido, el cual provoca una polarización en la densidad electrónica, lo que favorece la adición del nucleófilo al carbonilo de la posición 5.

## Evaluación Biológica

Los valores del compuesto IX no presentaron diferencia significativa con respecto al control. Lo mismo sucede con el compuesto VII a la dosis de 150 mg/Kg.

Con los resultados de la tabla 1 se calculó el decremento del área afectada con respecto al control.

**TABLA 2. % DE DECREMENTO DEL AREA AFECTADA/DOSIS**

SUSTANCIA	DOSIS (mg/Kg)		
	150	300	500
Compuesto VII	44.60	64.85	79.14
Compuesto VIII	56.86	93.18	99.63
Compuesto IX	32.09	47.05	82.97
Compuesto X	92.77	99.24	100

De acuerdo a los resultados podemos observar que los compuestos VIII y X presentan un mayor porcentaje de decremento del área afectada que el compuesto VII (proglumida). La respuesta de estos compuestos es dosis-dependiente como puede observarse en la tabla 2.

Es posible decir que la presencia de un ciclo conformado por átomos de carbono e hidrógeno, exclusivamente, en lugar de una cadena alifática en el sustituyente amino de la posición 5, aumenta la actividad de los compuestos; lo anterior se infiere al observar el comportamiento del compuesto IX el cual es un ciclo pero posee un átomo de oxígeno.

## **ESPECTROS**

**ESPECTRO 1: IR ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 2: RMN-H' ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 3: EM ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 4: IR ANHIDRIDO DEL ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 5: RMN-H' ANHIDRIDO DEL ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 6: EM ANHIDRIDO DEL ACIDO BENZOILAMIDO GLUTAMICO**

**ESPECTRO 7: IR ACIDO 4-(BENZOILAMIDO)-5-(DIPROPILAMINO)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 8: RMN-H' ACIDO 4-(BENZOILAMIDO)-5-(DIPROPILAMINO)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 9: EM ACIDO 4-(BENZOILAMIDO)-5-(DIPROPILAMINO)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 10: IR ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIPERIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 11: RMN-H' ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIPERIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 12: EM ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIPERIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 13: IR ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-MORFOLINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 14: RMN-H' ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-MORFOLINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

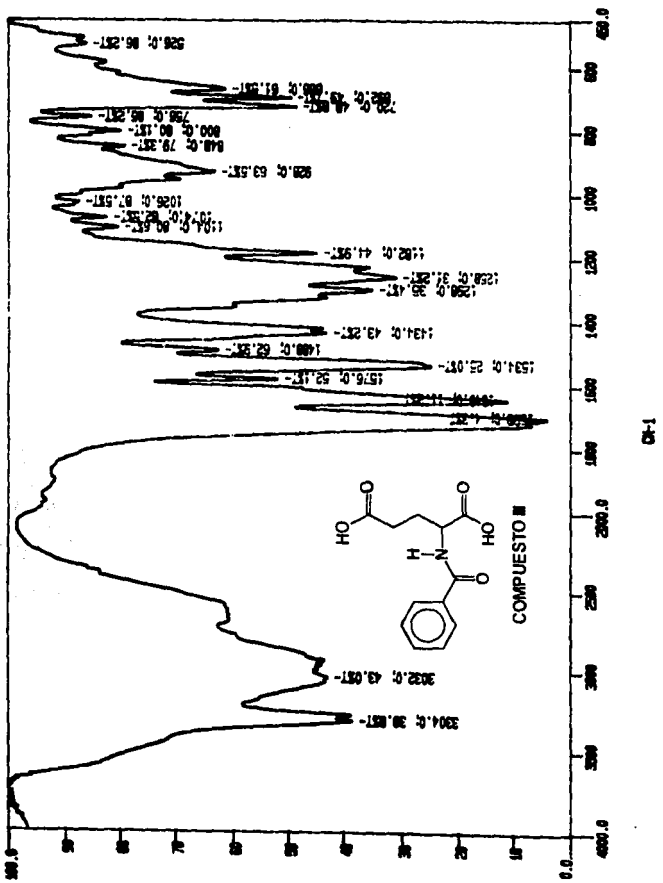
**ESPECTRO 15: EM ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-MORFOLINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 16: IR ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIRROLIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 17: RMN-H' ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIRROLIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

**ESPECTRO 18: EM ACIDO 4-(BENZOILAMINO)-5-(1-PIRROLIDINIL)-5-  
OXOPENTANOICO**

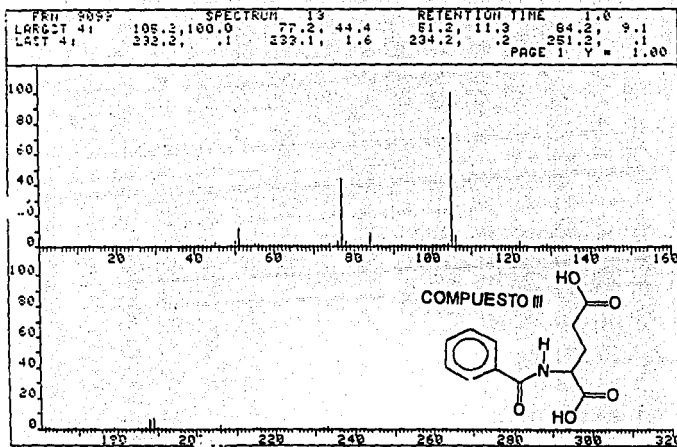
ESPECTRO 1



FALLA DE ORIGEN

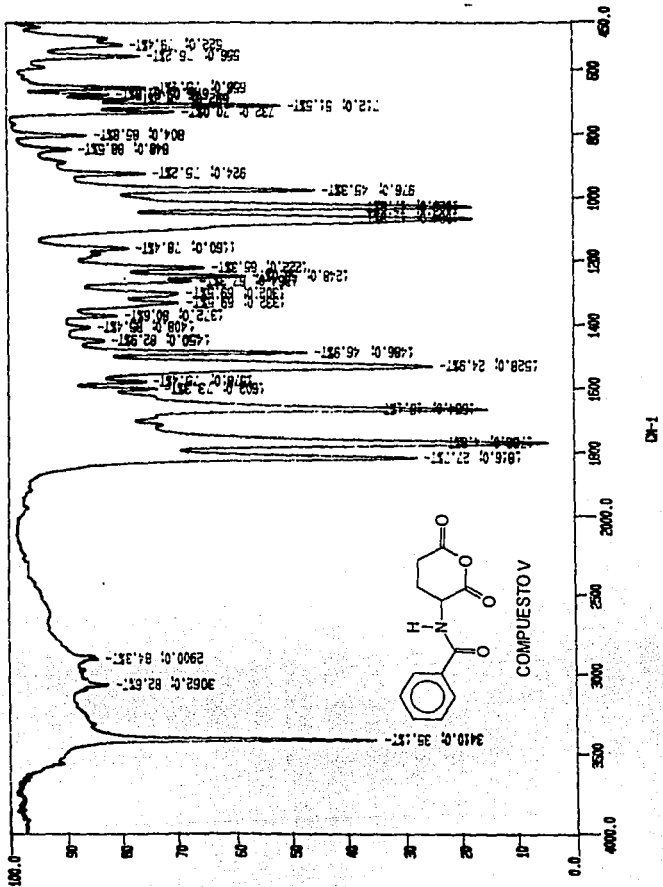


ESPECTRO 3



FALLA DE ORIGEN

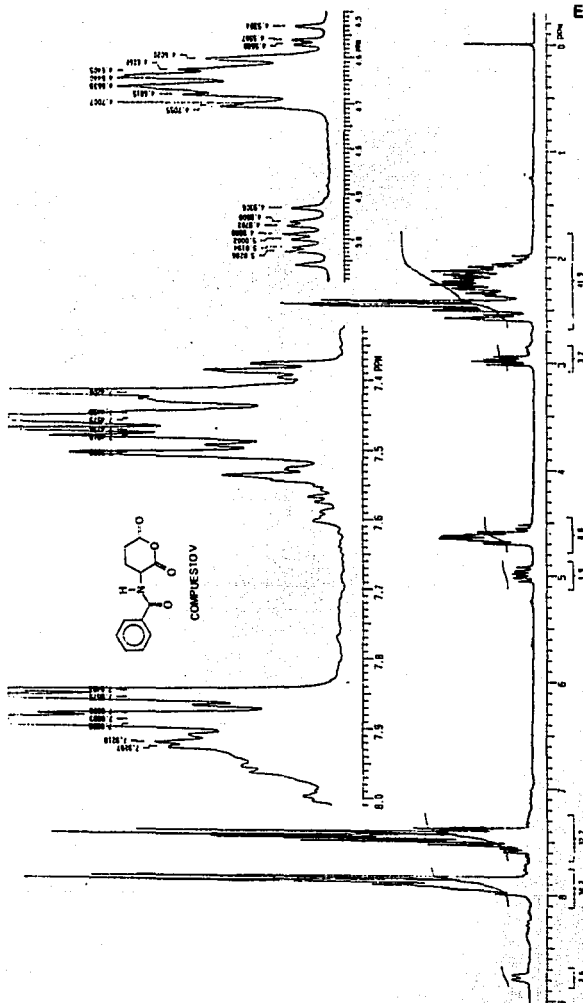
ESPECTRO 4



FALLA DE ORIGEN

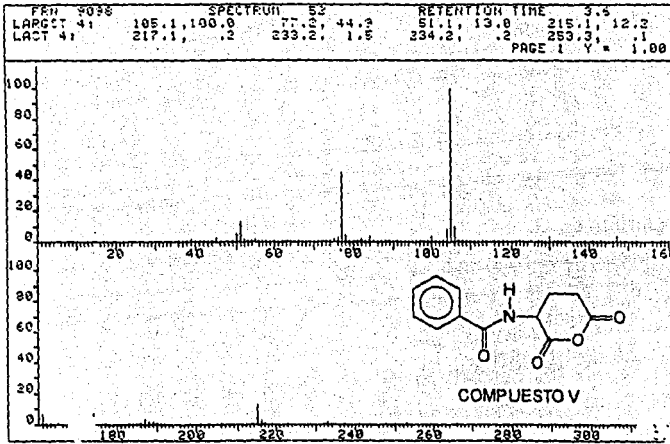


ESPECTRO 5



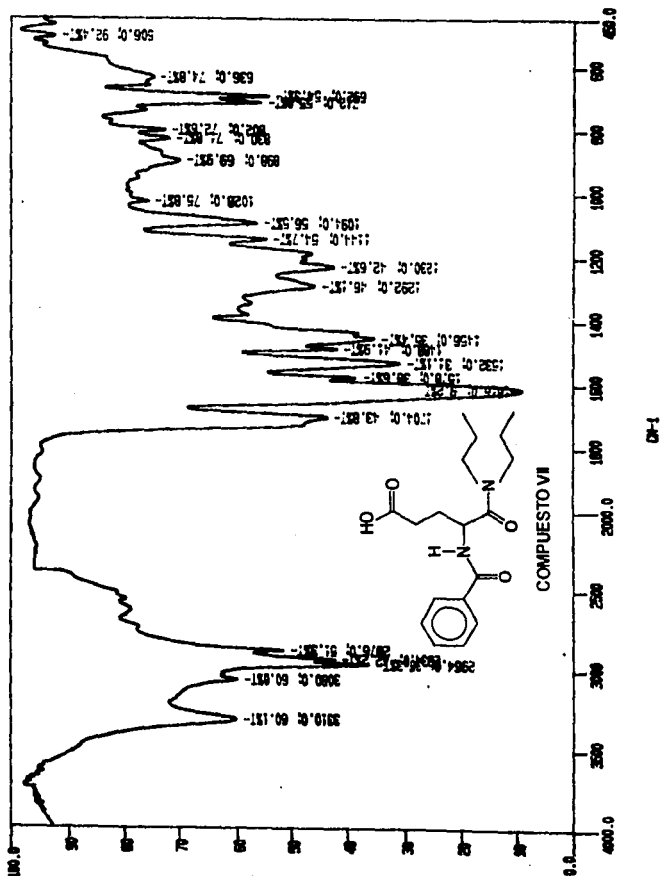
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 6



FALLA DE ORIGEN

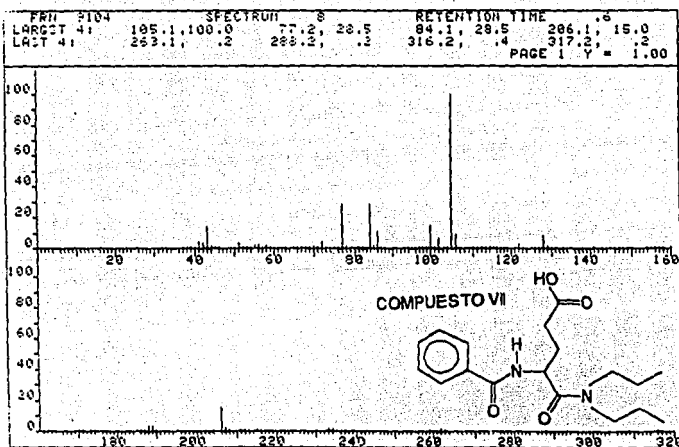
ESPECTRO 7



FALLA DE ORIGEN

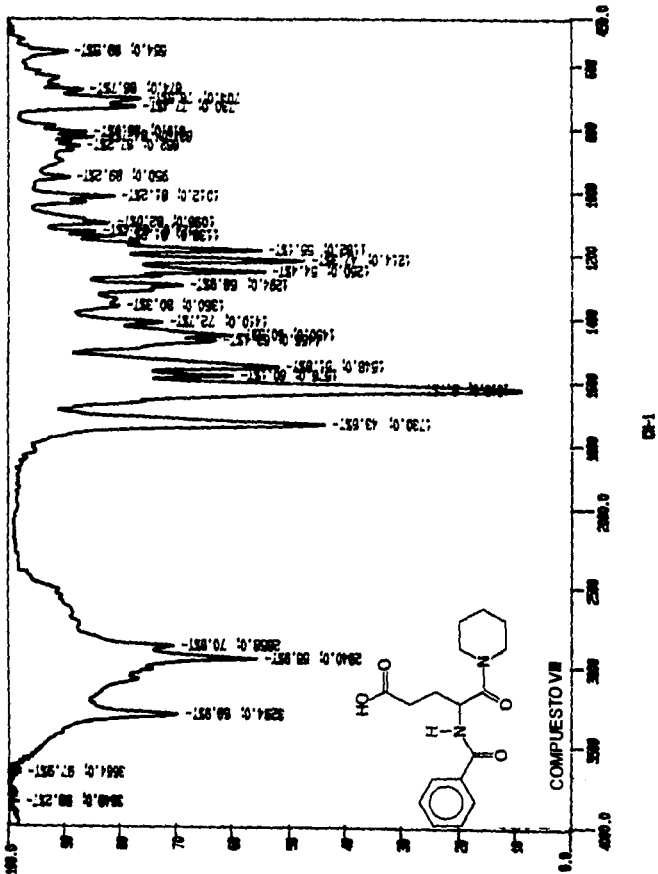


ESPECTRO 9



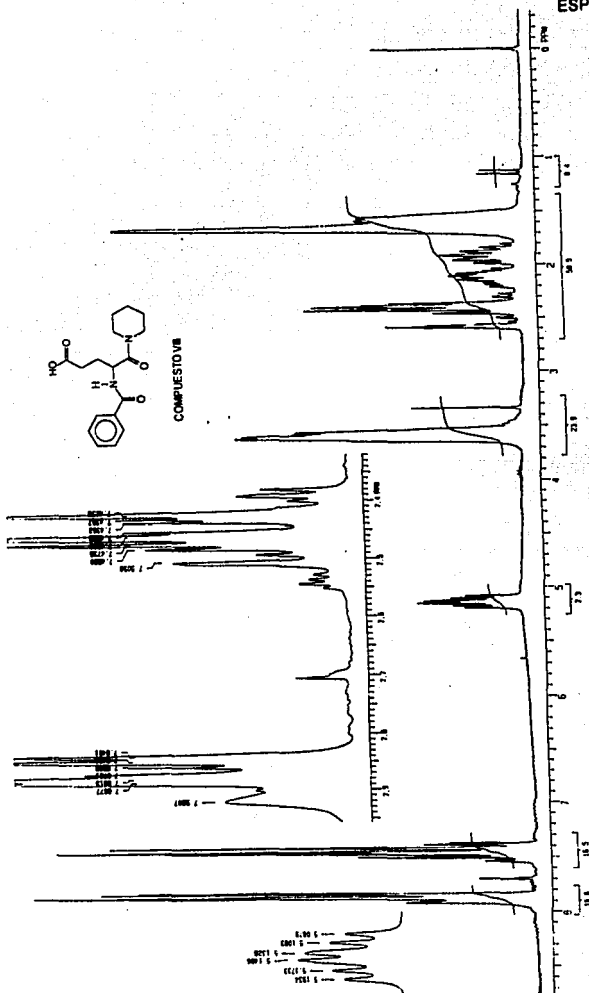
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 10



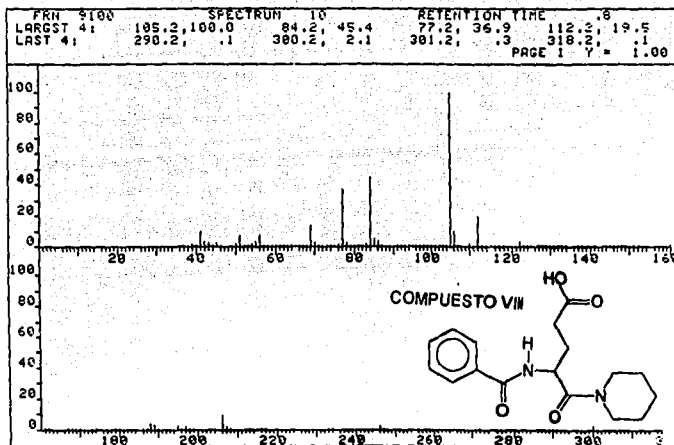
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 11



FALLA DE ORIGEN

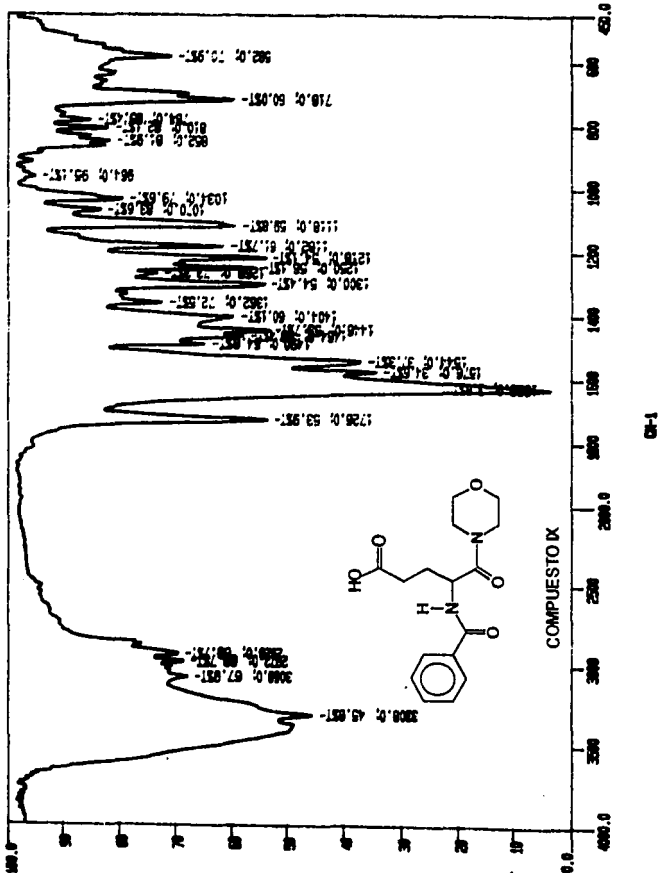
ESPECTRO 12



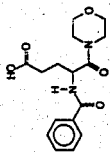
FALLA DE ORIGEN



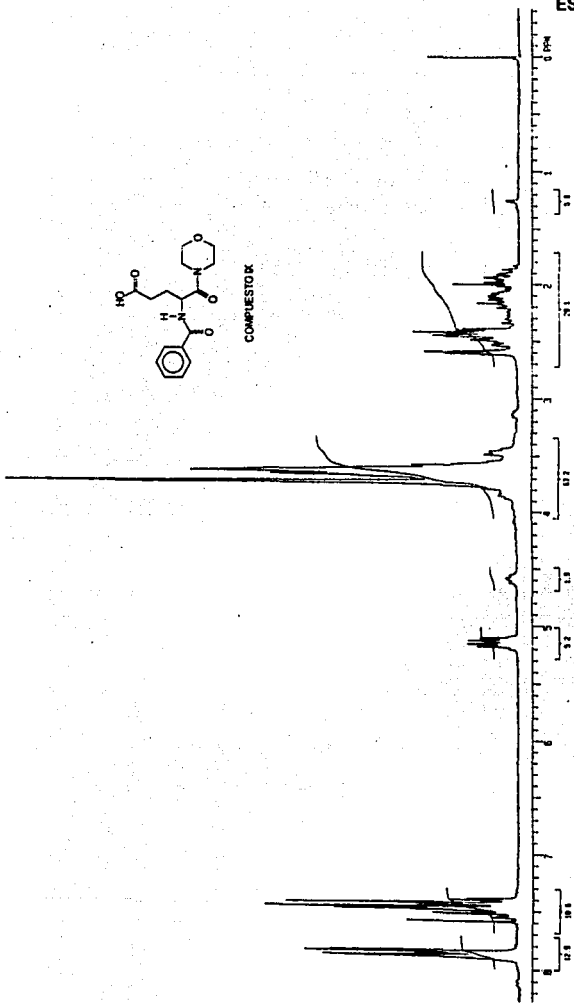
ESPECTRO 13



FALLA DE ORIGEN

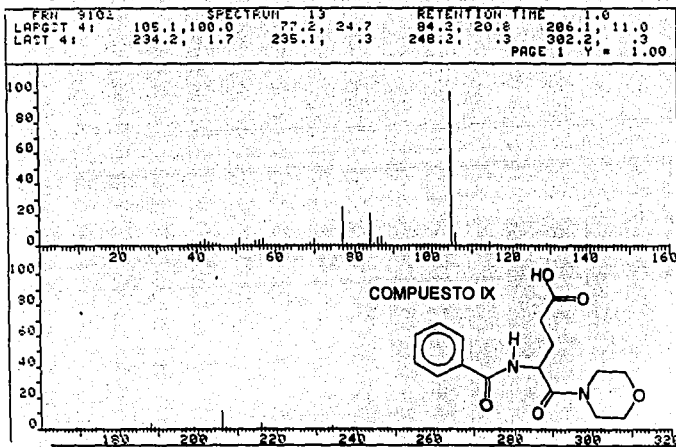


COMUESTO IX



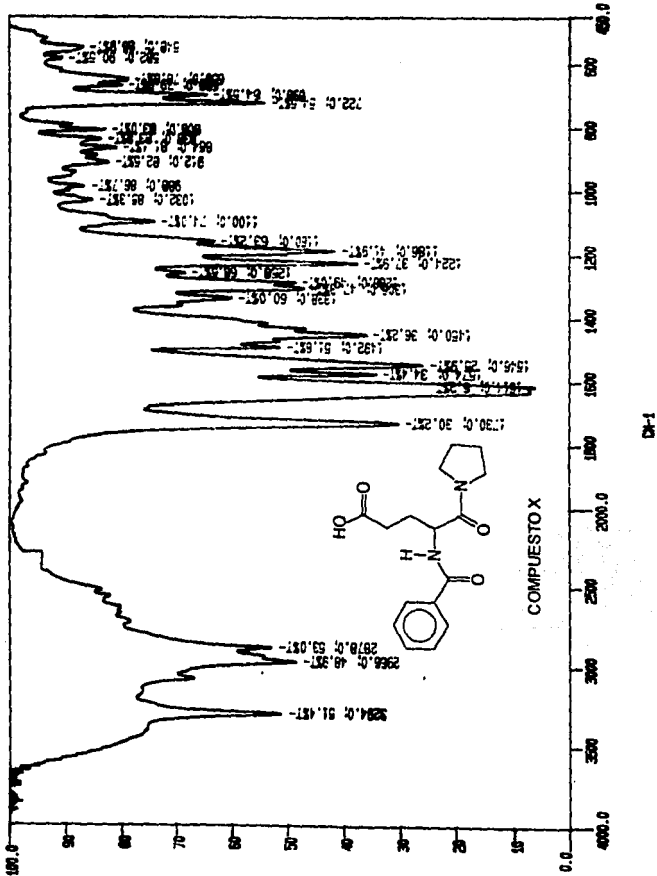
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 15



FALLA DE ORIGEN

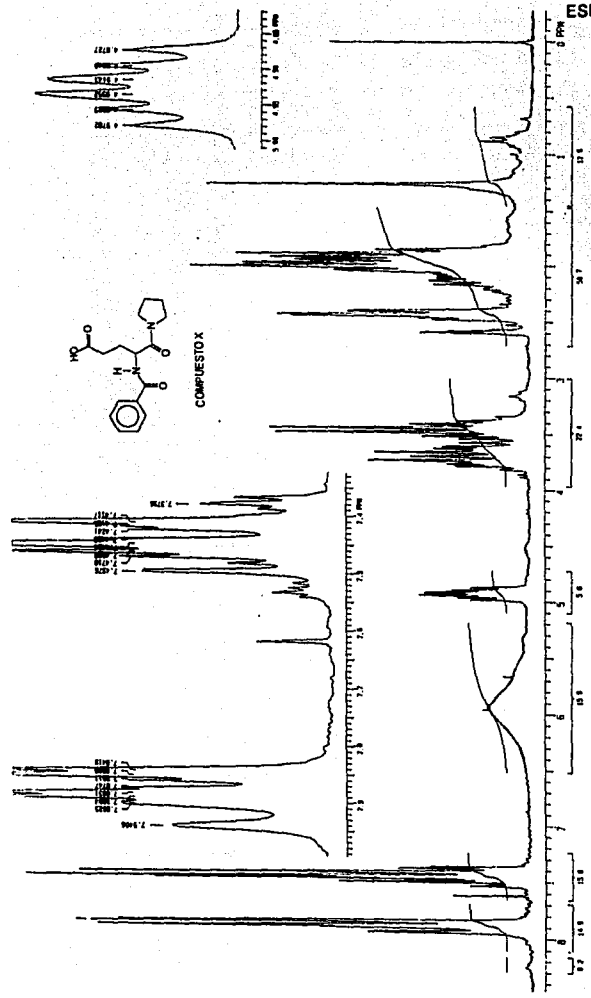
ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



11

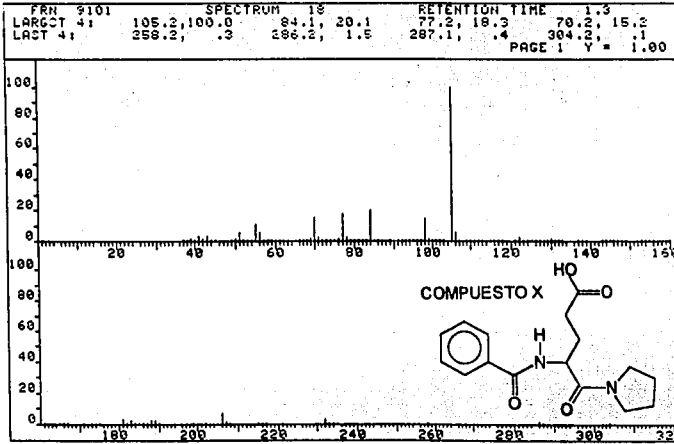
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 17



FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 18



FALLA DE ORIGEN

## CONCLUSIONES

Se preparó la proglumida así como tres análogos de la misma, mediante una adaptación del método de síntesis utilizado originalmente. Se hicieron evaluaciones biológicas preliminares de los análogos, comparando su actividad antiulcerosa con la de la proglumida.

Los antagonistas de gastrina habían sido utilizado hace algunos años , pero con el desarrollo de otro tipo de compuestos como lo son los antagonistas de los receptores H<sub>2</sub> de la histamina, habían sido desplazados casi totalmente, sin embargo, recientemente se han enfocado nuevas investigaciones hacia el desarrollo de moléculas cuya afinidad sea mayor hacia los receptores de gastrina y así posiblemente aumentar su potencia.

Con este trabajo se pretende reabrir un campo en el amplio estudio de los fármacos con acción antiulcerosa el cual puede ser objeto de múltiples exploraciones.

A pesar de los grandes avances en el estudio de la úlcera péptica, existen aún grandes enigmas, lo que provoca aún una mayor dificultad en la terapéutica. Sin embargo, existen dos marcadas tendencias en cuanto el tratamiento de las úlceras pépticas; el uso de citoprotectores y de agentes antibacterianos (especialmente contra *H. pylori*), pero sin olvidar la búsqueda de nuevos agentes inhibidores de la secreción ácida, cuya eficacia sea mayor.

Como se mencionó anteriormente los productos obtenidos no son ópticamente puros, pero dadas las investigaciones donde se menciona que es mayor la potencia del isómero D resultaría interesante llevar a cabo un estudio de la actividad de los enantiómeros puros y así hacer una comparación con los resultados obtenidos de la mezcla RS.

Con respecto a las pruebas biológicas los compuestos VII, VIII y X, presentaron un decremento en el área afectada en comparación con el control. El porcentaje de decremento varía al cambiar el sustituyente amino en la posición 5 y se observa que el efecto es dosis-dependiente. La presencia de una amina terciaria cíclica incrementa la respuesta. El compuesto que presentó un mayor porcentaje de decremento en el área afectada fue el compuesto X (ácido 4-(benzotilamino)-5-(1-pirrolidinil)-5-oxopentanoico).



## BIBLIOGRAFIA

1. Guyton, A. Tratado de Fisiología Médica; sexta edición. Ed. Interamericana, México, D.F. 1984.
2. Litter, M.: Farmacología Experimental y Clínica; séptima edición. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 1988.
3. Noguez, A.: Medicamentos utilizados en el tratamiento de las úlceras pépticas. Tesis de Licenciatura (Q.F.B.). UNAM. 1989.
4. Makovec, F. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 28-38.
5. Bowman, W.C. & Rand. M.J. Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Segunda edición. Ed. Interamericana. México, D.F., 1985.
6. Wolfe, M.; Soll, A. *The New England Journal of Medicine.* **1988**. 319(26), 1707-1715.
7. Feldman, M. & Richardson, C.T., en *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. ed. L.R. Johnson, Raven Press, New York, 1981, vol.1, p. 693.
8. Martínez, J. en *Gastrointestinal Regulatory Peptide Receptors. Comprehensive Medicinal Chemistry*. Vol 3, ed. J. C. Emmett, Pergamon Press. England. 1990. p. 929-952.
9. Ravard, S.; Dourisch, C.T. *Trends Pharmacol. Sci.* **1990**, 11, 271-273.
10. Elliott, R.; Kopecka, H. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 309-313.
11. Beinfeld, M.C. *Neuropeptides* **1983**, 3, 411-427.
12. Tariq, M.; Narayan, S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1987**, 241 (2), 602-607.
13. Shimazoe, T. ; Funakoshi, A. *Gan-To-Kagaku-Ryoho*; **1992**, 19(9). 1321-1325.
14. Harrison, J.D.; Jones, J. *Cancer* **1990**, 66(7), 1449-1452.
15. Beauchamp, R.D. ; Glass, E.J., *Ann. Surg.* **1985**, 303.

16. Rehfeld, J.F. *Am. J. Physiol.* **1981**, *240*, G255-266.
17. Lotti, V.J.; Chang, R.S.L. *Eur. J. Pharmacol.* **1989**, *162*, 273.
18. Hahne, W.F.; Jensen, R.T. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1981**, *78*(10), 6304-6308.
19. Jensen, R.T.; Murphy, M. *Am. J. Physiol.* **1985**, *249*, G214-220.
20. Jensen, R.T.; Randall, B. *Am. J. Physiol.* **1985**, *251*, G839-846.
21. Freidinger, R.M.; Whitter, W.L.; Gould, N.P.; Holloway, M.K.Chang, S.L.; Lotti, V.J. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 591-595.
22. Makovek, F.; Chisté, R.; Bani, M.; Revel, L.; Setnikar, L.; Rovati, L.A. *Eur. J. Med. Chem.* **1986**, *21*, 9.
23. Makovek, F.; Chisté, R.; Rovati, L.A.; Setnikar, I. *Regul. Pept.*, **1987**, *11*, 725.
24. Makovek, F.; Bani, M.; Cereda, R.; Chisté, R.; Pacini, M.A.; Revel, L.; Setnikar, L.; Rovati, L.A. *Arzneim.-Forsch. Drug. Res.* **1987**, *37*, 11, 1265-1268.
25. Bock, M.G.; DiPardo, R.M.; Evans, B.E.; Rittle, K.E.; Whitter, W.L.; Veber, D.F.; Anderson, P.S.; Freidinger, R.M. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 13-16.
26. Bent, A.; Blommaert, A.; Melman, C.; Ijzerman, A.; Wijngaarden, I.; Soudijn, W. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1042-1049.
27. Kerwin, J.; Nadzan, A.; Kopecka, H.; Wel, Ch.; Miller, T.; Witte, D.; Buurt, S. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 739-742.
28. Neth pat. Appl. 6,510,006, Rotta Research Laboratorioum, 1966
29. Japan Pat., 7400242, (1974); CA, 80, 121324u.
30. Castilla, L. : *Bioestadística; Software Development and Health Sciences México*, 1991.